

POLYLACTIC ACID PARTICLES CONTAINING PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE AND ITS PRODUCTION**Publication number:** JP1216918 (A)**Publication date:** 1989-08-30**Inventor(s):** GEN JIYOUKIYUU; IKADA YOSHITO +**Applicant(s):** BIO MATERIAL UNIVERS KK +**Classification:****- International:** A61K9/58; A61K9/16; A61K9/51; A61K9/52; A61K47/00;
A61K47/34; A61K9/16; A61K9/51; A61K9/52; A61K47/00;
A61K47/34; (IPC1-7): A61K9/58; A61K47/00**- European:** A61K9/16H6D4; A61K9/51**Application number:** JP19880042459 19880224**Priority number(s):** JP19880042459 19880224**Also published as:** JP2670680 (B2) EP0330180 (A1) EP0330180 (B1) EP0330180 (B2) US5100669 (A)[more >>](#)**Abstract of JP 1216918 (A)**

PURPOSE: To obtain the subject fine particles which can control the initial burst, keep gradual release for a long time, to increase the intake of medicine, by allowing a polylactic acid polymer to including a water-soluble physiologically active substance stable without deterioration of the activity.

CONSTITUTION: A water-soluble, physiologically active substance and polylactic acid are dissolved in a mixture of an organic solvent of hydrophilic property such as acetonitrile or acetone and water or an organic acid such as acetic or formic acid and the solution is converted into O/O or W/O emulsion in a poor solvent immiscible with the solvent mixture or the organic acid.; The emulsion is dried in liquid to give the subject preparation of polylactic acid fine particles containing a physiologically active substance and having an average particle size of 0.01-300m, where the elution of the physiologically active substance is controlled less than 30% based on the content in the particles, after 24 hours, when the particles are placed in a phosphate buffer solution of 7.4pH at 37 deg.C.

Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

⑩ 日本国特許庁 (JP) ⑪ 特許出願公開
⑫ 公開特許公報 (A) 平1-216918

⑬ Int. Cl. 識別記号 庁内整理番号 ⑭ 公開 平成1年(1989)8月30日
A 61 K 9/58 334 H-7417-4C
47/00 C-7417-4C
審査請求 未請求 請求項の数 7 (全9頁)

⑮ 発明の名称 生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球およびその製造法

⑯ 特 願 昭63-42459
⑰ 出 願 昭63(1988)2月24日

⑱ 発明者 玄 丞 栄 京都府宇治市小倉町天王24番8号

⑲ 発明者 筒 義 人 京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2-182

⑳ 出願人 株式会社バイオマテリアル・ユニバース 京都府京都市南区東九条南松ノ木町43番地の1

明細書

1. 発明の名称

生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球およびその製造法

2. 特許請求の範囲

1) 水溶性の生理活性物質を含有するポリ乳酸系微小球からなり、37°C、pH 7.4、リン酸緩衝液中の *in vitro* 溶出試験において、24時間後の生理活性物質の溶出量がポリ乳酸系微小球中の生理活性物質の含有量に対して30%以下に制御された平均粒子径約0.01 μm ~ 300 μm のポリ乳酸系微小球。

2) 水溶性の生理活性物質がポリペプチドまたは蛋白質系薬物、抗菌性薬物、抗腫瘍性薬物、解熱消炎鎮痛剤、鎮咳去痰剤、抗うつ剤、筋弛緩剤、抗潰瘍剤、抗アレルギー剤、降圧利尿剤、糖尿病治療剤、強心剤、血管拡張剤、不整脈治療剤、抗凝血剤、止血剤、麻薬拮抗剤、抗結核剤、ホルモン剤、免疫賦活

剤、抗てんかん剤、抗ヒスタミン剤、または農薬である特許請求の範囲第1項記載のポリ乳酸系微小球。

3) ポリ乳酸がL-乳酸ポリマー、D,L-乳酸ポリマー、L-乳酸とグリコール酸とのコポリマーまたは、D,L-乳酸とグリコール酸とのコポリマーである特許請求の範囲第1項記載のポリ乳酸系微小球。

4) 水溶性生理活性物質とポリ乳酸を水に対して親和性のある有機溶媒と水との混合液、あるいは有機酸に均一に溶解させた溶液をそれらの混合溶媒あるいは有機酸と混ざらない貧溶媒中で、ノ・型、あるいはW・型エマルジョンを形成させた後、液中乾燥により製剤化することを特徴とする水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球の製造法。

5) 水に対して親和性のあるポリ乳酸の溶媒となる有機溶媒がアセトニトリル、ジオキサン、アセトン、エチルアルコール、メチルアルコール、テトラヒドロフラン、ジメチルホ

ルムアミド、フェノール、ジメチルスルホキシド、プロピルアルコール、グリセリン、またはエチレングリコールである特許請求の範囲第4項記載の製造法。

6) ポリ乳酸の溶媒となる有機酸が酢酸、ギ酸である特許請求の範囲第4項記載の製造法。
 7) ポリ乳酸と水溶性の生理活性物質を溶解する共通溶媒、あるいは有機酸と混ざらない貧溶媒が、シリコーンオイル、流動パラフィン、または綿実油、ゴマ油、ヒマシ油、コーン油等の植物油、あるいはトルエン、キシレン、ヘキサン等の有機溶媒である特許請求の範囲第4項記載の製造法。

3. 発明の詳細な説明

[工業上の利用分野]

本発明は、水溶性の生理活性物質を含有する徐放型ポリ乳酸系微小球、およびその製造法に関するものである。

[従来の技術]

成高分子とがある。このポリ乳酸は自然界に広く分布、存在する乳酸を出発原料とした合成高分子であり、生体内で非酵素的に加水分解され最終的には炭酸ガスと水として体外に放出されてしまう興味ある生体内分解吸収性高分子である。

従って、1970年代から種々の薬物の徐放化担体として研究されてきている（製剤工場、玄丞然、Vol. 13, No. 10, P. 552, 1983年）。

それらの代表的なものとしては次のような方法が知られている。まず、疎水性の薬物、例えばエストラジオール等のホルモンをベンゼン等の有機溶媒にポリ乳酸とともに溶解させた後、溶媒を蒸発除去することによりフィルム、粉末、ペレット等の剤形に製剤化する方法がある（特公昭50-17525）。また、ポリ乳酸と疎水性の薬物を共通の有機溶媒に溶解し、相分離剤を添加し乳化せしめた後、溶媒を留去して微小粒子を採取するいわゆる液中乾燥法が知られている（特開昭55-33414）。しかし、これらの方法はベンゼン、クロロホルム等、水と親和性のない有機溶媒

近年、新しい薬剤投与系（ドラッグデリバリーシステム、DDS）に対する関心が非常に高まっている。これは既存医薬品の効力を最大限に高めると同時に、副作用を最小限に制御しようとする薬の安全性と有効利用を目的とした社会的な要請によるものである。

DDSの研究において、薬物の担体としてシリコーンゴム、ポリエチレン、あるいはエチレン-酢酸ビニル共重合体などの非分解性高分子がよく用いられ、皮膚や粘膜を介した経皮投与剤でかなりよい成果が得られている。しかし、これらの高分子材料がインプラントもしくは注入された場合、薬物の放出後にそれら担体が異物として体内に残存し、将来にわたって問題が残る。これに対して、生体内分解吸収性の高分子を担体として用いるならば、生体内で徐々に加水分解してゆくのに伴って、含有されている薬物が徐々に放出されるので、治療後に取り出すための外科的処置は不要となる。

生体内分解吸収性高分子には、コラーゲンで代表される天然高分子と、ポリ乳酸で代表される合

を用いていたため、疎水性の薬物しか適用できない。

一方、水溶性の薬物のポリ乳酸系高分子による徐放型製剤を得る試みとしては次のような方法が知られている。特開昭60-100516号には、W/O/W型の三層エマルジョンを形成し水中乾燥法によってポリ乳酸のマイクロカプセルを製造する方法が述べられている。この方法は製剤法が煩雑であり、薬物とポリ乳酸以外にゼラチン等の第三成分が必要であり、三層構造となっているためにサブミクロンの微小球は得られにくく、また、マイクロカプセルであるためポリ乳酸壁の一部に欠陥があるとバーストが生じ一定の徐放化が達成されにくい。さらに、特開昭57-150609号には、酸に安定なポリペプチドの徐放化について詳細に記載されている。ここでは、疎水性のポリ乳酸と親水性のポリペプチドをジオキサンと水との混合液に溶解させているものの、その溶液はポリ乳酸、あるいはポリペプチドの片方、あるいは

は両者が完全溶解しないため、こん湯溶液であり、また、ポリ乳酸とポリペプチドの不均一性を解消するため、一度キャスト法にて作製したフィルムを更にホットプレスにて圧縮成形することにより、ポリペプチド含有ポリ乳酸フィルム、シート、シリンダー、あるいはそれらの粉碎物に製剤化している。また、ポリ乳酸の溶媒として冰酢酸を用いているものの、ポリ乳酸とポリペプチド混合溶液を凍結乾燥させた後、高溫で押出成形して棒状に製剤化しており、本発明のごとく、 $0.01 \mu\text{m} \sim 300 \mu\text{m}$ の微小球の製剤化には全く普及されていない。

[発明が解決しようとする問題点]

これら既知の発明は、上述したように一定の効果を奏するDDSシステムを提供するものであるが、水溶性の生理活性物質を疎水性のポリ乳酸に分子オーダーで均一に混ざった微小球を調整できないか、またはその調整法が煩雑である等の欠点を有するのである。

そこで本発明者らは、調整方法が比較的簡単で、

かつ安定な薬剤の徐放特性が得られる製剤法を研究検討したところ、水溶性の生理活性物質とポリ乳酸を水に対して親和性のある有機溶媒と水との混合溶液、あるいは有機酸に均一に溶解させた溶液をそれらの混合溶液、あるいは有機酸と混ざらない黄溶媒中で乳化させた後、液中乾燥法により初期のバーストを抑えられるうえに長期間の徐放性を保持させられる微小球が容易に製剤化できることを見い出し本発明を完成した。

[問題点を解決するための手段]

本発明は、水溶性の生理活性物質を含有するポリ乳酸系微小球からなり、用いた薬物の微小球中の取り込み率が90%以上と高く、In vitro溶出試験(PH 7.4、リン酸緩衝液中、37°C)において、24時間後の生理活性物質の溶出量がその含有量に対して30%以下に制御された長期間一定の放出量で徐放が可能な平均粒子径約 $0.01 \sim 300 \mu\text{m}$ のポリ乳酸系微小球を提供するものである。

本発明にいう水溶性の生理活性物質とは、親水

性が強く、油水分配率の小さい薬物を好適なものとして挙げることができるが、油一水に相溶性であってもよい。かかる薬物としては、親水性の抗がん剤、抗生物質、生理活性を有するポリペプチド、解熱剤、鎮静剤、免疫賦活剤、抗炎症剤、鎮咳剤、抗てんかん剤、抗ヒスタミン剤、降圧利尿剤、糖尿病治療剤、筋弛緩剤、抗潰瘍剤、抗うつ剤、抗アレルギー剤、強心剤、不整脈治療剤、血管拡張剤、抗凝血剤、麻薬拮抗剤、止血剤、抗結核剤、ホルモン剤などが挙げられる。

抗がん剤の具体的なものとしては、アドリアマイシン、マイトマイシン、ブレオマイシン、シスプラチン、フルオロウラシル、メソトレキセート、アクリノマイシンD、クレスチン、ビシバニール、レンチナン、など、ポリペプチドとしては、インシュリン、ソマトスタチン、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)、LHRH誘導体、プロラクチン、副腎皮質刺激ホルモン、成長ホルモン、甲状腺ホルモン放出ホルモン、メラノサイト刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、パリブレシン、カ

ルシトニン、オキシトシン、副甲状腺ホルモン、ガストリン、テトラガストリン塩酸塩、グルカゴン、パンクリオザイミン、コレシストキニン、アンジオテンシン、ヒト胎盤ラクトゲン、ヒト織毛性ゴナドトロピン、エンケファリン、エンドルフィン、キョウトルフィン、インターフェロン、インターロイキン(I、II、III)、腫瘍壞死因子(TNF)、タフトシン、サイモボイエチン、サイモシン、サイモスチムリン、胸腺被膜因子、血中胸腺因子、コロニー誘発因子、モチリン、ディノルフィン、ボムペシン、ニュウロテンシン、セルレイン、プラティキシン、ウロキナーゼ、アスパラギナーゼ、カリクレイン、サブスタンスP、神経成長因子、血液凝固因子、塩化リゾチーム、ポリミキシンB、コリスチン、グラミシジン、バシドラシン、などである。

抗生物質としては、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、およびテトラサイクリンなどのテトラサイクリン類、種々のペニシリン類、セファロスボリン類および

ストレプトマイシン、ノバビオシン、ネオマイシン、スルホンアミド類、エリスロマイシン、コリスチン、リンコマイシン、ナリジキシックアシッド、アブラマイシン、サリノマイシン、ニグリシン、カナマイシン、キトサマイシン、タイロシン、フルルタドン、バンコマイシン、チオストレプトン、ゲンタマイシン、トフラマイシン、スピラマイシン、リストセチン、ソイマイシン、さらに、エリスロマイシン、5-0-ミカミノツルタイロノリド、塩酸ジベカシンなどが挙げられる。

解熱消炎鎮痛剤としては、サルチル酸ナトリウム、スルビリン、ジクロフェナックナトリウム、インドメタシンナトリウム、フルフェナム酸ナトリウム、塩酸ペチジン、塩酸モルヒネ、オキシモルフォン、酒石酸レボルファノール、などである。

鎮静剤としては、プロクロルペラジン、トリクロペラジン、塩酸クロルプロマジン、硫酸アトロビン、奥化メチルスコポラミンなどがある。

鎮咳去痰剤としては、塩酸ノスカピン、リン酸コデイン、塩酸メチルエフェドリン、塩酸エフ

エドリン、塩酸アロクラマイド、リン酸ジヒドロコデイン、塩酸クロフェジアノール、塩酸ピコベリダミン、クロペラスチン、塩酸イソプロテレノール、塩酸プロトキロール、硫酸サルブタモール、硫酸テルブタリンなどが挙げられる。

抗うつ剤としては、硫酸フェネルジン、クロミプラミン、キシブチリン、イミプラミン、などである。

抗てんかん剤としては、エトサクシミド、アセタゾラミドナトリウム、塩酸クロルジアゼボキシド、フェニトイインナトリウムなどである。

筋弛緩剤としては、メタンスルホン酸ブリジノール、奥化パンクロニウム、塩化ツボクラリンなどがある。

抗潰瘍剤としては、塩酸ヒスチジン、メトクロプロミドなどがある。

抗アレルギー剤としては、フマル酸ケトチフェン、塩酸ジフェンヒドラミン、マレイン酸クロルフェラミン、塩酸メトジラジン、塩酸トリベラミン、塩酸クレミゾール、塩酸ジフェニルピラリ

ン、塩酸メトキシフェナミンなどが挙げられる。

降圧利尿剤としては、塩酸クロニジン、カブトプリン、塩酸ブニトロロール、ヘキサメトニウムプロミド、ペントリニウム、塩酸エカラジン、塩酸メカミルアミンなどである。

糖尿病治療剤としては、グリビサイド、グリミジンナトリウム、塩酸フェンフォルミン、メトフォルミン、塩酸ブフォルミンなどがある。

強心剤としては、塩酸エチレフリン、アミノフィリン、トランスバイオキソカンファー、テオフィノールなどである。

血管拡張剤としては、塩酸オキシフェドリン、塩酸トラゾリン、塩酸ジルチアゼム、硫酸バメタン、ヘキソベンジンなどである。

不整脈治療剤としては、塩酸プロプラノール、塩酸オキシブレロール、塩酸ブフェトロール、塩酸アルブレノロールなどがある。

抗凝血剤としては、ヘパリンナトリウム、クエン酸ナトリウムなどがある。

止血剤としては、アセトメナフトン、トロンビ

ン、トロンボプラスチン、メナジオン亜硫酸水素ナトリウム、トラネキサム酸、イーアミノカブロン酸、アドレノクロムモノアミノグアニジンメタスルホン酸塩、カルバゾクロムスルホン酸ナトリウムなどがある。

麻薬拮抗剤としては、酒石酸レバロルファン、塩酸ナロキソン、塩酸ナロルフィンなどである。

抗結核剤としては、イソニアジド、エタントール、パラアミノサリチル酸ナトリウムなどがある。

ホルモン剤としては、デキサメタゾン硫酸ナトリウム、リン酸ナトリウムブレドニゾロン、コハク酸ブレドニゾロン、メチマゾール、ベタメタゾンリリン酸ナトリウム、リン酸ヘキセストロール、酢酸ヘキセストロールなどが挙げられる。

本発明の製剤は、ポリ乳酸のホモポリマー・マトリックス、あるいは、コポリマー・マトリックスと、上記の生理活性物質の他に医薬製剤に通常使用される他の物質、例えば固形希釈剤、担体、結合剤、賦形剤および補助剤を含有させることができる。

例えば、トラガントゴム、アラビアゴム、トウモロコシ澱粉、ゼラチン、アルギン酸、ステアリン酸マグネシウム、アルブミン、アルミニウムモノステアレート、油ろう、ショット、乳糖、メチルパラベン、プロピルパラベン、マンニット、プロピレングリコール、微品質セルロース、珪酸カルシウム、シリカ、ポリビニルピロリドン、セトステアリルアルコール、カカオ脂、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、乳酸エチル、ソルビタントリオレート、エチルラウレート、ステアリン酸カルシウム、タルク、オレイン酸、リノール酸などがある。

ポリ乳酸系高分子に対する上記生理活性物質の含有量は、薬物の種類、目的とする薬理効果および徐放錠時間によって異なるが、約0.01%～約60% (V/V)、好ましくは0.1%～50% (V/V) の範囲が適している。

微小球のサイズは數ナノメーターから数百ミクロンまでの範囲が適当であるが、静脈注射を可能にし、リンパ指向性、筋中投与、あるいは肝臓、

肺、脾臓などの網内皮系組織への集積等、目的に応じて調製でき、また使用できる。また、サイズの分布に関しては狭ければ狭いほど好ましいが、ふるい分け程度の分布でも問題はない。

本発明で使用されるポリ乳酸は、ポリ- α -乳酸、ポリ- β -乳酸あるいは乳酸-グリコール酸共重合体など、加水分解速度や薬物との相溶性などの目的に応じて用いることができ、またそれらの分子量は特に限定されるものではないが、重量平均分子量3000以上50万までの範囲が好ましいが、より好ましい分子量は3,000～20,000程度のオリゴマー領域である。さらに、ポリ乳酸と同じ生体内分解吸収性ポリマーであるポリ- β -ヒドロキシブチレート、3-ヒドロキシブチレートと4-ヒドロキシブチレートとの共重合体、ポリデブシペプチド、ポリジオキサン、あるいは乳酸とラクトンとの共重合体、乳酸とポリエチレングリコールとの共重合体等も使用できる。

本発明で使用される水と親和性のある有機溶媒としては、水と任意の割合でよく混ざり、かつボ

リ乳酸の貧溶媒と混ざらないものが好ましい。例えば、アセトニトリル、ジオキサン、アセトン、エチルアルコール、メチルアルコール、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、フェノール、ジメチルスルホキシド、プロピルアルコール、グリセリン、またはエチレングリコール等が好ましいが、これらの有機溶媒の中でもとくにアセトニトリルとジオキサンが好ましい。また、ポリ乳酸の溶媒となる有機酸としては、酢酸、ギ酸、グリコール酸、あるいは乳酸が好ましいが、これらの中でも特に酢酸が好ましい。さらに、酢酸の誘導体、例えば酢酸メチル、酢酸エチル、トリクロロ酢酸、トリフルオロ酢酸、あるいは酢酸ナトリウム、酢酸カルシウム、酢酸カリウム、その他の酢酸塩等も使用できる。酢酸の場合には冰酢酸が好ましいが、例えば分子量の高いタンパク質の薬物で氷酢酸に溶解しにくい場合は、80～90%の酢酸を使用するのが良い。一方、アセトニトリル、あるいは、ジオキサンの場合、それら有機溶媒100%ではポリペプチド系の薬物の溶解性が劣る

ため、有機溶媒と水との混合割合は70:30～99.9:0.1 (重量比) の範囲、好ましくは80:20～95:5 の範囲である。

貧溶媒としては、水溶性の生理活性物質とポリ乳酸の共通溶媒と実質的に相溶性がなく、蒸留後の除去が容易なものが好ましく、例えば、シリコンオイル、流動パラフィン、あるいは、綿実油、ゴマ油、ヒマシ油、コーン油、等の植物油や油膚、または、トルエン、キシレン、ヘキサン、等の有機溶媒が使用できる。

本発明の水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球の製剤法としては、有機溶媒/水混合系の場合はO/O型エマルジョン液中乾燥法と醇酸系の場合はW/O型エマルジョン液中乾燥法の基本的には二つの方法がある。両方法とも乳化剤を使用するのが製剤化しやすいため、その乳化剤としては、一般に安定なO/O型とW/O型エマルジョンを形成するものであればどのようなものでも限定されるものではないが、例えばHLB 3～6.5の非イオン性界面活性剤が好適に用いられる。具

体例としては、ソルビタンモノステアレート、ソルビタンジステアレート、ソルビタンモノオレート、ソルビタンセスキオレート、ソルビタントリオレート、レシチン等がある。これら疎水性乳化剤の添加量は、通常疎水性媒体の100重量部に対し0.1~5重量部、好ましくは1~3重量部である。乳化操作は、プロペラ型攪拌法、コロイドミル法、ホモジナイザー法、超音波照射法、マイクロフルイダイマー等の公知の分散法が通用できるが、数ミクロンサイズの微小球を得るには超音波照射法が好ましく、また数10nm~数100nmの微小球を得る場合にはマイクロフルイダイマーが適している。

かくして超音波照射法等により得られたO/O型、あるいはW/O型エマルジョンからのポリマーと薬物との共通溶媒を系外に留去することにより生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球が生成するが、これを貧溶媒中から通過または遠心操作により分離した後、微小球表面に付着残存する貧溶媒除去のためアセトンやヘキサン等の有機溶媒にて

洗浄し、乾燥手段を施すことにより本発明の微小球を製造することができる。

本発明により得られる水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球は注射剤、経口投与剤、経皮投与剤、坐剤、経鼻投与剤、口腔投与剤あるいは眼内投与剤等に適用される。

[発明の効果]

本発明により得られる水溶性生理活性物質含有ポリ乳酸系微小球は、疎水性高分子であるポリ乳酸系高分子に水溶性生理活性物質の活性をそこなわずに安定に均一包含させることにより、初期バーストを制御するとともに1週間以上の長期間にわたる徐放性を付与できるのみでなく、微小球中の薬物の取り込み率も90%以上に向上させることができた。

以下に実施例を挙げて本発明を詳細に説明する。
実施例1.

重量平均分子量約3,600のポリーエー乳酸1gを9mlのアセトニトリルに溶解させた溶液と、アドリアマイシン原末50mgを1mlの蒸留水に溶解

させた溶液とをマグネチックスターラーによる搅拌下で混合させた。この溶液を界面活性剤としてスパン80を2wt%含有した100mlの純実油にプロペラ型攪拌機による搅拌下で滴下し、40~60℃の加温下でアセトニトリルと水の混合溶媒を蒸発させた後、遠心分離機により遠沈させ、n-ヘキサンにて洗浄することにより平均粒径20~30μmのアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。in vitro溶出実験は、所定量の微小球をpH7.4のリン酸緩衝液中で37℃の振とう器付恒温槽にて行い、薬剤濃度を蛍光測定により評価した。

比較例1.

重量平均分子量約3,600のポリーエー乳酸1gを10mlの塩化メチレンに溶解させた溶液中にアドリアマイシン原末50mgを添加しマグネチックスターラーにて搅拌下で分散混合させた。この溶液を実施例1と同じ方法でアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。

実施例2.

重量平均分子量約7,500のポリーエー乳酸を用いた他は実施例1と全く同じ条件下でアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。

実施例3.

重量平均分子量約7,000のエー乳酸-グリコール酸共重合体(共重合組成比7:3)を用いた他は実施例1と全く同じ条件下でアドリアマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表1に示す。

実施例4.

重量平均分子量約3,600のポリーエー乳酸1gを9mlのアセトニトリルに溶解させた溶液と、抗生素であるトフラマイシン200mgを1mlの蒸留水に溶解させた溶液をマグネチックスターラーによる搅拌下で混合させた。この溶液を実施例1と同じ方法でトフラマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro溶出結果を表2に示す。in vitro溶出実験は実施例1と同様で薬剤濃度の測

定は枯草菌を用いたバイオアッセイ法にて行った。

比較例 2.

重量平均分子量約 3,600のポリーエー乳酸 1 g を 1.0 ml の塩化メチレンに溶解させた溶液中にトフラマイシン 200 mg を添加し、マグネチックスターラーにて搅拌下で分散混合させた。この溶液を実施例 1 と同じ方法でトフラマイシン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro 溶出結果を表 2 に示す。

実施例 5.

重量平均分子量約 3,600のポリーエー乳酸 1 g を 8 ml のアセトニトリルに溶解させた溶液と、シスプラチン 2 mg を 2 ml の蒸留水に溶解させた溶液とをマグネチックスターラーによる搅拌下で混合させた。この溶液を実施例 1 と同じ方法でシスプラチン含有ポリ乳酸微小球を作製した。微小球中の薬物の取り込み率はほぼ 100% であった。in vitro 溶出結果を表 1 に示す。in vitro 溶出実験は実施例 2 と同様で溶出量の定量は原子吸光法により行った。

P - C 1 - P h e ' ' , D - T r p ' , D - A r g ' , D - A l a ' '] - L H - R H) 200 mg を 2 ml の蒸留水に溶解させた溶液とをマグネチックスターラーによる搅拌下で混合させた。この混合液は白濁せず混合前と同様透明でポリマー、薬剤とも完全に溶解していた。この溶液を界面活性剤としてレシチンを 1 wt% 含有した 200 ml のゴマ油にプロペラ型搅拌機による搅拌下で滴下し、さらに超音波ホモジナイザーによる乳化を行い、40~60℃ の加温下で酢酸と水を蒸発させた後、遠心分離機により遠沈させ、n-ヘキサンにて洗浄、乾燥させることにより平均粒径 0.5~5 μm の LHRH 含有ポリ乳酸系微小球を作製した。

この微小球を精製ゴマ油に分散させ体重約 350 g の雌ラットの皮下に注射 (LHRH 投与量として 12 mg/kg) し、LHRH の生体に及ぼす効果 (下垂体-性腺系の感感受性にもとづく内生殖系臓器の萎縮) を長期間にわたって観察したところ、約 60 日間にわたってその効果が持続した。

実施例 7.

比較例 3.

シスプラチン 2 mg を 20% ゼラチン水溶液 2 ml に溶解し重量平均分子量約 3,600のポリーエー乳酸の 20% 濃度の塩化メチレン溶液 1.0 ml に加え、超音波乳化させることにより W/O 型エマルジョンを調製した後、急冷することによりゼラチン相をゲル化させた。これを、別に氷冷しておいた 100 mg の 1% ポリビニルアルコール水溶液中に注入し、ホモジナイザーにて分散させ W/O/W 型エマルジョンを調製した後、塩化メチレンを蒸発、乾燥させることによりシスプラチン含有ゼラチンのポリ乳酸マイクロカプセルを作製した。この場合のマイクロカプセル中のシスプラチンの取り込み率は約 29% であった。in vitro 溶出結果を表 2 に示す。

実施例 6.

重量平均分子量約 12,000 の L-乳酸-グリコール酸共重合体 (共重合体組成比 80:20) 2 g を冰酢酸 20 ml に溶解させた溶液と、荷体形成ホルモン放出ホルモン LHRH (N-Ac[D-

P-C 1-Phe'']-D-LHRH) 100 mg を 0.1 N HCl 2 ml に溶解させた溶液とをマグネチックスターラーによる搅拌下で混合させた。この混合液も白濁せず透明性を呈していた。この溶液を実施例 6 と同じ方法でインシュリン含有ポリ乳酸微小球を作製した。in vitro 溶出試験の結果を表 3 に示す。インシュリン濃度はグルコースオキシダーゼ法 (酵素法) により測定した。

比較例 4.

重量平均分子量 16,000 のポリ-D,L-乳酸 2 g を冰酢酸 20 ml に溶解させた溶液中にインシュリン 100 mg を添加し、マグネチックスターラーにて搅拌下で分散混合させた。この溶液を実施例 7 と同じ方法でインシュリン含有ポリ乳酸系微小球を作製した。in vitro 溶出試験の結果を表 3 に示す。

実施例 8.

重量平均分子量約 7,600の乳酸-グリコール酸

共重合体（共重合体組成比 80 : 20）2 g とカルシトニン 10,000 単位とを 9.8% 酢酸 20 ml にマグネチックスターラーによる攪拌下で溶解させた後、実施例 6 と同様の方法でカルシトニン含有ポリ乳酸系微小球を調製した。カルシトニン活性は血清カルシウムの低下作用による測定結果では、その活性の低下は認められなかった。この場合のポリ乳酸系微小球へのカルシトニンの取り込み率は約 95 % であった。In vitro 溶出結果を表 3 に示す。In vitro 実験は実施例 1 と同様で、溶出量の定量は HPLC にて行った。

比較例 5.

カルシトニン 10,000 単位を比較例 3 と同様の方法により W/O/W 型エマルジョンを調整し、カルシトニン含有ゼラチンのポリ乳酸マイクロカプセルを作製した。この場合のポリ乳酸マイクロカプセルへのカルシトニンの取り込み率は約 53 % であった。In vitro 溶出結果を表 3 に示す。

実施例 9.

重量平均分子量約 5,300 の乳酸-グリコール酸

共重合体（共重合体組成比 75 : 25）1 g とマウスインターフェロン α とインターフェロン γ 1×10^6 単位を 9.2% 酢酸 10 ml に溶解させた溶液を界面活性剤としてレシチン 1 wt% 含有ゴマ油 100 ml 中に滴下した後、microfluidics corporation 製マイクロフルイダイザ (M-110H) にて乳化させた後、液中乾燥法により平均粒径 100 nm ~ 500 nm のインターフェロン含有ポリ乳酸系微小球を作製した。この場合の微小球へのインターフェロンの取り込み率は約 98 % であった。

実施例 10.

BALB/C マウス 1 匹当たり 2×10^6 個の BALB/C マウス由来の Meth-A 細胞肉腫細胞をマウス腹腔内移植した。移植後、3 日目から 2 日おきに、実施例 9 で作製したマウスインターフェロン α 含有ポリ乳酸系微小球をマウス腹腔内に投与した。移植 10 日後のマウス腹腔内の Meth-A の細胞数およびマウスの延命効果を検討した。得られた結果を表 4 に示す。

比較例 6.

マウスインターフェロン α 1×10^6 単位を比較例 3 と同じ方法により w/o/w 型エマルジョンを調製し、インターフェロン α 含有ゼラチンのポリ乳酸マイクロカプセルを作製した。この場合のマイクロカプセルへのインターフェロンの取り込み率は約 47 % であった。In vivo 実験を実施例 10 と同様に行い、その結果を表 4 に示す。

実施例 11.

重量平均分子量約 3,600 のポリ-L-乳酸 500 mg とヒト癌壞死因子 (TNF) 7.8×10^6 単位とを 8.8% 酢酸 10 ml に溶解させた溶液を実施例 9 と同様な方法により TNF 含有ポリ乳酸微小球を調製した。In vitro の溶出実験を実施例 1 と同じ方法にて行い定量を酵素抗体法にて行ったところ、活性が 30 日間持続した。

実施例 12.

重量平均分子量約 3,600 のポリ-L-乳酸 500 mg とインターロイキン II (IL-II) 1×10^6 単位とを 8.8% 酢酸 10 ml に溶解させた溶液を実

施例 9 と同様な方法によりインターロイキン II 含有ポリ乳酸微小球を調製した。

得られた微小球をマウスの血中に投与し IL-II の血中濃度を IL-II 依存性の cell line である CTL-L-2 を用いて測定したところ、96 時間にわたって 1×10^6 単位/ml 以上の高濃度が検出された。

実施例 13.

重量平均分子量約 3,600 のポリ-L-乳酸 500 mg とラットの表皮成長因子 (EGF) 0.5 mg とを 9.0% 酢酸 20 ml に溶解させた溶液を実施例 6 と同様な方法により EGF 含有ポリ乳酸微小球を調製した。

得られた微小球を頸動脈挿管処理のラットに皮下注射し、血漿中の EGF を放射線免疫分析によって測定したところ、血漿中の EGF の増大が 2 日目からみとめられ約 30 日間持続した。

実施例 14.

重量平均分子量約 3,600 のポリ-L-乳酸 500 mg とウロキナーゼ 60 万単位とを氷酢酸に溶解さ

せた溶液を実施例6と同様な方法によりウロキナーゼ含有ポリ乳酸微小球を調製した。In vitroの溶出試験を行いフィブリンプレート法により溶出活性を測定したところ約4週間にわたって1,000単位以上のウロキナーゼが検出された。

実施例15.

重量平均分子量約5,600のポリーレー乳酸500mgとウシのプロラクチン100mgを冰酢酸に溶解させた溶液を実施例6と同様の方法によりプロラクチン含有ポリ乳酸微小球を調製した。得られた微小球をラットの皮下に注射し血漿中のプロラクチンを放射線免疫分析によって測定したところ、約60日間にわたって高濃度のプロラクチンが検出された。

実施例16.

重量平均分子量約4,700のポリーレー乳酸1gとバニマイシン(硫酸ジベカシン)100mgとをアセトニトリルと水との混合溶媒(9:1)20mlに溶解させた溶液を実施例1と同様な方法によりバニマイシン含有ポリ乳酸微小球を調製した。

得られた微小球はのIn vitro溶出試験方法で抗菌性の持続を枯草菌によるバイオアッセイにより測定したところ約30日間にわたって10μg/ml以上の高濃度の持続が確認された。

【以下余白】

表1

溶出時間 (日)	アドリアマイシン溶出量累積(%)			
	実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
1	24.5	9.3	12.2	33.6
3	28.1	11.7	24.3	91.3
4	37.3	20.2	31.6	100.0
14	56.6	29.3	42.3	/
21	78.2	41.5	55.1	/
28	89.4	53.8	67.3	/
42	100.0	69.1	81.7	/
56	X	X	84.6	100.0
68	X	X	100.0	/

表2

溶出時間 (日)	トフライマイシン溶出量累積(%)		シスプラチニン溶出量累積(%)	
	実施例4	比較例2	実施例5	比較例3
1	29.5	93.5	21.7	35.4
3	42.1	100.0	35.4	86.5
7	65.7	/	53.2	100.0
14	83.5	/	71.7	/
28	91.4	/	95.3	/
42	100.0	/	100.0	/

表3

溶出時間 (日)	インシュリン溶出量累積(%)		カルヒトニン溶出量累積(%)	
	実施例7	比較例4	実施例8	比較例5
1	21.2	71.3	13.6	51.3
4	48.3	100.0	23.5	92.4
8	63.5	/	49.7	100.0
12	74.7	/	66.9	/
16	87.9	/	91.2	/
20	96.3	/	98.5	/

表4

	Meth-A細胞数 (×10 ⁴)	生存日数 (日)
実施例10	405±263	60
比較例6	952±287	14

特許出願人 株式会社バイオマテリアル・ユニバース